

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

日本国特許  
PATENT OFFICE  
JAPANESE GOVERNMENT

03.07.00

REC'D 18 AUG 2000	
WIPO	PCT

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日

Date of Application:

1999年 7月 7日

出願番号

Application Number:

平成11年特許願第192993号

出願人

Applicant (s):

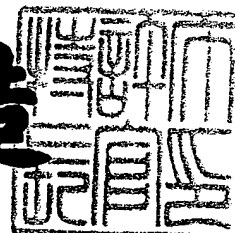
清水 慶彦  
株式会社タビック

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2000年 8月 4日

特許庁長官  
Commissioner,  
Patent Office

及川耕造



出証番号 出証特2000-3060429

【書類名】 特許願  
 【整理番号】 KP-9573  
 【提出日】 平成11年 7月 7日  
 【あて先】 特許庁長官 伊佐山 建志 殿  
 【発明の名称】 人工神経管  
 【請求項の数】 9

【発明者】

【住所又は居所】 京都府宇治市木幡御蔵山 39-676

【氏名】 清水 慶彦

【特許出願人】

【識別番号】 591101825

【住所又は居所】 京都府宇治市木幡御蔵山 39-676

【氏名又は名称】 清水 慶彦

【特許出願人】

【識別番号】 597095474

【住所又は居所】 東京都港区虎ノ門 1丁目 22番 12号

【氏名又は名称】 株式会社タピック

【代理人】

【識別番号】 100078662

【弁理士】

【氏名又は名称】 津国 肇

【電話番号】 03(3502)7212

【選任した代理人】

【識別番号】 100075225

【弁理士】

【氏名又は名称】 篠田 文雄

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 023836

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9705114

【包括委任状番号】 9721756

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 人工神経管

【特許請求の範囲】

【請求項1】 生体内分解吸収性材料からなるチューブの内腔に微細線維化コラーゲン体を有する人工神経管であって、該微細線維化コラーゲン体中の空隙にラミニンが充填されたものである人工神経管。

---

【請求項2】 前記の生体内分解吸収性材料が、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、グリコール酸と乳酸との共重合体、乳酸と $\epsilon$ -カプロラクトンとの共重合体、ポリジオキサノン、及びグリコール酸とトリメチレンカーボネートとの共重合体の群から選択される材料からなるメッシュ状材料であって、少なくともその外面にゼラチン又はコラーゲンからなる被覆層を有するものである、請求項1記載の人工神経管。

【請求項3】 前記のメッシュ状材料が、約5～30 $\mu$ mのメッシュ孔径を有するものである、請求項2記載の人工神経管。

【請求項4】 前記の生体内分解吸収性材料が、微細線維化コラーゲンからなるものであって、少なくともその外面にコラーゲンからなる被覆層を有するものである、請求項1記載の人工神経管。

【請求項5】 前記の微細線維化コラーゲン体中に、細胞栄養／成長因子、自己の炎症系細胞又は自己、同種もしくは異種のミエリン形成細胞、の内の少なくとも1つを更に導入してなる請求項1乃至4のいずれか1に記載の人工神経管。

【請求項6】 人工神経管の製造方法であって、生体内分解吸収性材料からなるチューブを準備し；該チューブの内腔にコラーゲンの塩酸溶液を導入し；凍結し；凍結乾燥して微細線維化コラーゲン体を形成し；該内腔に微細線維化コラーゲン体を有するチューブに熱架橋処理を施し；そして該微細線維化コラーゲン体中にラミニンを導入する；方法。

【請求項7】 前記の生体内分解吸収性材料からなるチューブが、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、グリコール酸と乳酸との共重合体、乳酸と $\epsilon$ -カプロラクトンとの共重合体、ポリジオキサノン、及びグリコール酸とトリメチレンカーボ

---

ネットとの共重合体の群から選択される材料からなるメッシュ状材料の少なくともその外面にゼラチン又はコラーゲン溶液をコーティングし；風乾した後、熱架橋処理を施して得られたものである請求項6記載の方法。

【請求項8】 前記の生体内分解吸収性材料からなるチューブが、芯材の表面にコラーゲンの塩酸溶液をコーティングし；凍結し；凍結乾燥して微細線維化コラーゲンからなる層を得；該微細線維化コラーゲンの層を圧縮し；該圧縮した微細線維化コラーゲンの層の少なくとも外面にゼラチン又はコラーゲン溶液をコーティングし；風乾した後、熱架橋処理を施して得られたものである請求項6記載の方法。

【請求項9】 その中にラミニンを導入された前記の微細線維化コラーゲン体中に、ゼラチン又はコラーゲンに担持させた細胞栄養／成長因子、別途培養した自己の炎症系細胞又は自己、同種もしくは異種のミエリン形成細胞、の内の少なくとも1種を導入する請求項7又は8に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、人工神経管に関する。

【0002】

【従来の技術】

末梢神経が、手術で切断されたり、あるいは外傷により切断された場合、切断された末梢神経の断端の相互を直接吻合する方法がまず試みられる。しかし、多くの場合、切断された神経を正確に直接吻合することは不可能であり、切断されたまま放置されることがある。このため、末梢側に向かって再生しようとする神経が、結合組織などに阻まれ、末梢側神経断端に到達できずに、切断端神経腫となって再生が停止し、その結果、術創や創傷の治癒後、切断された神経の機能が回復せず、後遺症が残ることが多い。直接吻合が不可能である場合、同じ患者から、その機能のあまり重要でない末梢神経を部分的に切除し、これを用いて神経の切断箇所に自家移植を行うこともある。しかし、この方法でも、神経機能が十分に回復されないことが多いばかりでなく、移植神経を採取した部分においても

機能の低下が見られることが多い。

【0003】

そこで、切断された末梢神経の断端の相互を、チューブ状の医用材料、つまり人工神経管で接続し、神経幹の中枢側断端から末梢側断端に向かって軸索が再生し、正しい方向に伸びるのを誘導して、末梢神経幹から神経筋接合部又は末梢感覚受容器まで到達させ、これにより、機能を回復させようとする試みが多数行われてきた。人工神経管としては、従来、シリコーン、ポリエチレン、ポリ塩化ビニルなどからなる非多孔性チューブ、延伸ポリテトラフルオロエチレン、セルロースなどからなる多孔性チューブ、ポリアクリロニトリルやポリスルホンなどからなる半透膜チューブ、生体内分解性材料であるポリグリコール酸、ポリ乳酸もしくはこれらの共重合体などからなるチューブ、あるいはゼラチンチューブ、あるいは動脈もしくは静脈などの同種由来の生体組織チューブが試みられてきた。しかし、これらの材料による末梢神経の再生実験では、材料により生体の修復が妨げられるため、これまで再生することのできた神経の長さは、長くても15mm程度のものである。また、再生する神経が細く、神経の形態が正常に回復しないばかりか、再生した神経の機能も回復しないことが多い。また、神経成長因子であるNGFをチューブに充填した例も報告されているが、NGFが早期に流出、拡散してしまうため、優れた効果は得られていない。

【0004】

最近では、コラーゲンチューブに、ラミニン及びフィブロネクチンを被覆したコラーゲン線維を充填した人工神経管 (Tong, X., et al. Brain Research 663: 155-162 (1994)) が試みられているが、神経がより長く再生するまでの間、コラーゲンチューブが分解されずに残存することができず、良好な結果は得られていない。

【0005】

一方、脊髄は、一度損傷を受けると再生しないと考えられてきた。外傷、腫瘍などにより脊髄が損傷を受けた場合、損傷を受けた脊髄は再生することなく、損傷部以下の機能は失われたままであり、対麻痺が後遺症として残ることになる。

を鋭利に切断し、正確に再縫合した場合は、機能が回復し、脊髄損傷部もかなり修復されること、脊髄の一部を管状に切除し、この箇所に肋間神経束を埋植すると、脊髄の一部が再生し、機能も部分的ではあるが回復すること、そして脊髄の一部を管状に切除し、この箇所に胎児の脊髄を移植すると、脊髄の機能も形態も回復することなどが、ラットの実験で観察されている。この場合でも、移植する胎児の脊髄片を、それぞれの神経突起を正しく対応させて移植した場合にのみ再生が起きることが認められている。以上の知見より、脊髄においても、正確に再生組織のコンパートメントを一致させる様に誘導することによって、脊髄の再生が起こり得ることが判明したが、実際に脊髄の再生を可能とする人工脊髄管は全く開発されていない。

#### 【0006】

##### 【発明が解決しようとする課題】

そこで、神経が再生するまで生体内で残存させることができるよう、生体内分解速度をコントロールでき、神経の再生と共に生体内で分解吸収されるため、神経の再生後、再生した神経を圧迫することがなく、切断された神経断端から再生してくる軸索が正しい方向に伸びるように誘導し、生体からの毛細血管の侵入を促すことによって早期の血流回復をもたらし、神経組織の再生を促すような人工神経管の開発が望まれてきた。また末梢神経ばかりでなく、脊髄の欠損部分を接続し、脊髄組織を正しく再生し、機能回復を促す人工脊髄管の開発も熱望されている。

#### 【0007】

##### 【課題を解決するための手段】

本発明は、生体内分解吸収性材料からなるチューブ（10，20）の内腔に、微細線維化コラーゲン体（30）を有する人工神経管であって、該微細線維化コラーゲン体中の空隙にラミニンが充填されたものであることを特徴とする。

#### 【0008】

本発明はまた、人工神経管を製造する方法であって、生体内分解吸収性材料からなるチューブ（10，20）を準備し；該チューブの内腔にコラーゲンの塩酸溶液を導入し；凍結し；凍結乾燥して微細線維化コラーゲン体（30）を形成し；

該内腔に微細線維化コラーゲン体を有するチューブに熱架橋処理を施し；そして該微細線維化コラーゲン体中にラミニンを導入する；ことを特徴とする。

【0009】

【発明の実施の形態】

本発明の人工神経管を構成するチューブ（10、20）の長さ及び内径は、神経の切断部分の長さ及び太さによって異なるが、例えば、座骨神経（不図で例示）の約25mm程度の欠損部をカバーするには、長さは、約28～35mm、好ましくは約30mm、内径は、約1～8mm、好ましくは約4mmである。また、本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合も、該チューブの長さは切断部分の長さに応じて決定すればよく、またその内径は、好ましくは約2～12mm、特に約10mmである。

【0010】

本発明の人工神経管を構成する生体内分解吸収性材料からなるチューブ（10、20）は、切断された神経が再生して、切断された箇所が再結合するまでの間（約1～3か月間）、チューブ外からの生体細胞の侵入を防ぐためにチューブの形状を保持する必要がある、そのために、生体内分解吸収性でありながらも、ある程度の期間、生体内でその形状を維持することの必要である。このような材料の基材としては、ポリグリコール酸、ポリ乳酸、グリコール酸と乳酸との共重合体、乳酸とε-カプロラクトンとの共重合体、ポリジオキサノン、及びグリコール酸とトリメチレンカーボネートとの共重合体から選択される材料からなるメッシュ状材料が例示されるが、なかでもポリグリコール酸からなるメッシュ状チューブが好ましい。また、前記のメッシュ状チューブのほか、微細線維化コラーゲンからなるチューブも好適に用いることができる。

【0011】

まず、生体内分解吸収性材料からなるチューブが、ポリグリコール酸などの材料からなるメッシュ状チューブ（11）の少なくとも外面に、ゼラチン又はコラーゲンからなる被覆層（13、23）を有するものである、本発明の人工神経管（以下、「タイプ-1」という）について記載する。ポリグリコール酸などの材料からなるメッシュ状チューブ（11）は、生体内で約1～3か月間、そのチュ

ープ状の形状を保持させるため、該チューブの厚さ（筒体としてのチューブの壁の厚さ。以下、同様）は、好ましくは約0.1～3mm、特に約0.5～2mmである。厚さが約3mmを超えると、生体組織の再生の障害となり、厚さが約0.1mm未満であると、チューブの分解吸収が早過ぎて、神経が再生し終わるまでその形状が維持されない。また、本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合は、その厚さは、好ましくは約0.2～5mm、特に、約0.5～3mmである。

#### 【0012】

前記チューブの基材がポリグリコール酸などの材料である場合、それ自身疎水性である基材に水透過性を付与するため、該基材はメッシュ状のものとする。このメッシュ状チューブ（11）のメッシュ孔径は、好ましくは約5～30μm、特に10～20μmである。メッシュ孔径が、約5μm未満であると細胞や組織が増殖できず、約30μmを越えると組織の進入が過剰となる。

#### 【0013】

また、該材料自体には組織の再生を促進させる作用はないので、基材としてのチューブ（11）の少なくとも外面に、組織再生促進作用を有する材料からなる被覆層（13、23）を有せしめるが、該基材としてのチューブの内外両面とも及びメッシュ孔内部も該組織再生促進作用を有する材料にて被覆又は充填されているのが好ましい。被覆層（13、23及び／又は12、22）の厚さは、好ましくは約0.2～5mm、特に約0.5～3mmである。このような組織再生促進作用を有する材料としては、水透過性を有し、生体に適用しても異物反応を起こさず、生体親和性及び組織適合性に優れ、組織の再生を促進させる作用を有するコラーゲン又はゼラチンが挙げられる。コラーゲンの原料としては、従来から用いられている各種動物由来のコラーゲンを使用することができ、例えばウシ、ブタ、ウサギ、ヒツジ、カンガルー、鳥などの動物の皮膚、骨、軟骨、腱、臓器などに由来する、酸、アルカリ、酵素などによって可溶化されたI型コラーゲン、又はI型とIII型の混合コラーゲンが好ましい。このコラーゲンからなる被覆層は、コラーゲン分子が分散しているアモルファス構造の層である。ゼラチンからなる被覆層は、日局精製ゼラチンを原料とすることができる。

## 【0014】

本発明の人工神経管においては、生体内分解吸収性材料からなるチューブ基材は、上記のポリグリコール酸などの材料からなるメッシュ状チューブ(11)のほか、組織再生促進作用のあるコラーゲンを原料とした、微細線維化コラーゲンからなるチューブ(21)であることもできる。以下に、生体内分解吸収性材料が、微細線維化コラーゲンからなるチューブであり、そして該チューブの少なくとも外面に有する被覆層(23、及び/又は22)がコラーゲンからなるものである、本発明の人工神経管(以下、「タイプ-2」という)について記載する。

## 【0015】

該チューブ基材の原料として用いるコラーゲンとしては、タイプ-1の人工神経管の被覆層の原料と同様、従来から用いられている各種動物由来の、酸、アルカリ、酵素などによって可溶化されたI型コラーゲン、又はI型及びIII型の混合コラーゲンが好適である。この微細線維化コラーゲンからなる材料は、コラーゲン分子からなる微細線維が多重に折り重なった不織布状多元構造体(詳しくは、コラーゲン分子数個からなる直径3~7nmの超微細繊維をその基本単位とし、該超微細繊維がバンドルとなって直径30~70nmの微細線維を形成し、該微細線維が更なるバンドルとなって直径1~3 $\mu$ mの細繊維を形成し、次いで該細繊維のバンドル列が縦横互い違いに積層されて直径5~8 $\mu$ mの繊維を形成し、次に該繊維が同軸方向に重なり合って直径20~50 $\mu$ mの板状繊維を形成している。最終的にこの板状繊維11が、ランダムに絡み合って最大単位としての線維性コラーゲンを形成しているものである。図2参照)マトリックス又は糸状物を織ったものもしくは編んだものであり、これを材料とするチューブ(21)は、タイプ-1の人工神経管のチューブ(11)と同様な内径及び長さを有する。その厚さは、好ましくは約0.5~5mm、特に約1~2mmであり、また本発明の人工神経管を人工脊髄管として用いる場合は、その厚さは、好ましくは約0.5~5mm、特に約1~3mmである。また、このチューブ(21)の少なくとも外面に形成されるコラーゲンからなる被覆層(23及び/又は22)は、チューブ基材としての微細線維化コラーゲンからなる不織布状多元構造体と同様、従来から用

混合コラーゲンを原料とするものである。但し、形態としては、コラーゲン分子が分散しているアモルファス構造の層である。尚、その被覆層の厚さは、好ましくは約0.1～2mm、特に約0.5～1mmである。

【0016】

本発明の人工神経管は、先に詳細に記載した、生体内分解吸収性材料からなるチューブ（10, 20）のの内腔に、微細線維化コラーゲン体（30）を有するものであって、該微細線維化コラーゲン体中の空隙にラミニンが充填されたものである（ここで、該微細線維化コラーゲン体は、チューブ基材としての微細線維化コラーゲンからなる不織布状多元構造体と実質的には同様の構造のものである。図3参照）。この人工神経管を生体に適用すると、該微細線維化コラーゲン体を神経繊維が再生の足場として利用して、再生、伸展していく（尚、神経線維の再生・進展の過程において該微細線維化コラーゲン体は少しずつ消化・消滅して行く）。

【0017】

好ましい実施態様としては、生体内分解吸収性材料からなるチューブ基材（11又は21）がポリグリコール酸の筒状メッシュ体からなるチューブ（11）であり、該チューブの被覆層（23及び／又は22）がアモルファスコラーゲンからなるものである。

【0018】

以下に、本発明の人工神経管の製造方法について記載する。

【0019】

先ず、タイプ-1の人工神経管であるが、それを製造するには、まずポリグリコール酸などを材料として、メッシュ状のチューブ（11）を作製する。どのような方法によってもよいが、例えばポリグリコール酸などの線維（例えば、直径0.1mmの線維）を筒状に編んで、上記の厚さを有するメッシュ状のチューブを得る。調製したメッシュ状チューブ（11）を、上記のコラーゲン又はゼラチン溶液を塗付するか又は該溶液中に浸漬し（この塗付又は浸漬を以下、「コーティング」という）、次いで風乾することによって、メッシュ状チューブ（11）の少なくとも外面、及びメッシュ孔内部にもコラーゲン又はゼラチン被覆層（1

3、23及び/又は12、22)を形成する(該メッシュ状チューブの外面及びメッシュ孔内部のみに該コラーゲン又はゼラチン被覆層を形成する場合には、該コラーゲン又はゼラチン溶液のコーティングに先立ち、該メッシュ状チューブの内腔に該メッシュチューブの内面に当接するテフロン製の棒を入れておけばよい)。このコラーゲン又はゼラチン被覆層の形成には、好ましくは約1~3重量%、特に約1~2重量%のコラーゲンを含む、約1Nの塩酸溶液(pH約3)、又は約2~30重量%、好ましくは約10~20重量%のゼラチン水溶液を使用する。尚、このタイプの人工神経管においては、メッシュ状チューブ(11)に親水性を付与するため、その表面にプラズマ放電、オゾン照射などの親水化処理を行ってから、コラーゲン又はゼラチンで被覆するのが好都合である。

#### 【0020】

一方、タイプ2の人工神経管を調製するには、チューブ内面に当接する、例えば、直径が約1~8mm、好ましくは約4mmのテフロンなどの棒を芯材として用いる。尚、本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合には、好ましくは直径約2~12mm、特に約10mmの棒を芯材として用いる。これを、好ましくは約0.5~3重量%、特に約1~2重量%のコラーゲンを含む約1N塩酸溶液に浸漬して、該芯材の表面に、厚さが好ましくは約5~20mm、特に約10mmのコラーゲン塩酸溶液層を形成し、これを凍結する(例えば、約0℃で約12時間)。尚、本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合は、厚さが好ましくは約5~30mm、特に約20mmのコラーゲン塩酸溶液層を形成し、これを凍結する。凍結することによって、塩酸溶液中に分散しているコラーゲン分子の間に微細な氷が形成され、コラーゲン塩酸溶液が層分離を起こし、そしてコラーゲン分子が再配列することによってコラーゲンが微細線維化する。次に、これを更に真空下、凍結乾燥(例えば、約0℃で約24時間)する。凍結乾燥することによって、コラーゲン分子間の微細な氷が気化するとともに、コラーゲンの微細線維が多重に折り重なった不織布状コラーゲン層からなるチューブが得られる。

#### 【0021】

次に、この微細線維化コラーゲン層をその上に形成させた芯材を、ポリエチレンなどの袋に入れ、密閉し、脱気して、あるいは、脱気せずに該微細線維化コラ

ーゲン層を機械的に押しつぶしてコラーゲン層を圧縮する。圧縮することによって、密度の高い微細線維化コラーゲン層（２１）が得られる。この圧縮操作は、圧縮後の該微細線維化コラーゲン層の厚さが好ましくは約０．５～５mm、特に約１～２mm、人工脊髄管として用いる場合には、厚さが好ましくは約０．５～５mm、特に約１～３mmとなるように行う。尚、微細線維化コラーゲンからなるチューブとして、コラーゲンの糸状物を織ったもの又は編んだものを用いる場合には、前記のコラーゲン塩酸溶液層の形成に代えて、前記のコラーゲン塩酸溶液から湿式紡糸にてコラーゲンの糸状物を先ず作り、それを筒状に織・編成し、そして凍結以降、同様の操作を行えばよい。

#### 【００２２】

このようにして形成した圧縮微細線維化コラーゲン層（２１）の少なくとも外面上に更にコラーゲン被覆層（２３及び／又は２２）を形成する。これらのコラーゲン被覆層（２３及び／又は２２）を形成することによって、より高い強度を有する生体内分解吸収性材料からなるチューブ（２０）が得られる。これらのコラーゲン被覆層（２３及び／又は２２）を形成するには、前記の芯棒から取り外した微細線維化コラーゲン層（２１）からなるチューブを再び好ましくは約０．５～３重量％、特に約１～２重量％のコラーゲンを含む約１N塩酸溶液を塗付又は該コラーゲン塩酸溶液に浸漬して、微細線維化コラーゲン層（２１）の少なくとも外面上に、コラーゲン塩酸溶液層を形成し、これを風乾する。この浸漬と風乾操作を複数回、好ましくは５～２０回程度繰り返し、コラーゲン分子が分散しているアモルファス構造のコラーゲン被覆層（２３及び／又は２２）とする（コラーゲン塩酸溶液層の厚さは、それぞれ全体として、好ましくは約０．２～１．０mm、特に約０．５mmである）。本発明の人工神経管を人工脊髄管として使用する場合も、この厚みは同様である。

#### 【００２３】

このようにして調製したチューブ（２０）は、があるので圧縮微細線維化コラーゲン層（２１）のみからなるチューブと比較して高い引き裂き強度を有する（アモルファスコラーゲンの該圧縮微細線維化コラーゲン層への一部進入及び該圧縮微細線維化コラーゲン層と該コラーゲン被覆層の界面におけるコラーゲンの一

部溶解・析出による) ために取扱いやすく、神経との縫合が容易である。

#### 【0024】

上記の通り調製した、生体内分解吸収性材料からなるチューブ(10、20)の内腔に、微細線維化コラーゲン体(30)を形成する。この微細線維化コラーゲン体(30)を形成するには、芯材の装填及び圧縮操作を行なわないことを除き、タイプ=2のチューブ(21)の形成と同様にして行なえばよい。要するに、チューブ(10)又はチューブ(20)をある種の型として前記のコラーゲン塩酸溶液をこれらのチューブの内腔に流し込み、凍結し、凍結乾燥すればよい。

#### 【0025】

尚、この微細線維化コラーゲン体(30)の形成に先立ち、コラーゲン又はゼラチン被覆層(13、23及び/又は12、22)及び圧縮微細線維化コラーゲンからなるチューブ(21)に耐水溶性を付与するために架橋処理を行なう(タイプ=2の場合には、チューブ(21)を調製後、被覆層(23及び/又は22)の形成前にもこの架橋処理を行なってもよい)。この架橋処理は、本発明の人工神経管に、末梢神経が再生し終わるまでの間、そのチューブ状の形状を保持させて、神経管外からの細胞の侵入を防ぐためにも有利である。

#### 【0026】

架橋処理は、再生を要する神経切断部の長さによっても異なる(生体内でのチューブの保形機能付与が律速となるため)が、生体への適用後、1~3か月間、チューブ状の形状を保持させる程度に行う。架橋方法としては、 $\gamma$ 線架橋、紫外線架橋、電子線架橋、熱脱水架橋、グルタルアルデヒド架橋、エポキシ架橋及び水溶性カルボジイミドが挙げられるが、架橋の程度をコントロールしやすく、架橋処理を行っても、生体に影響を及ぼさない熱脱水架橋が好ましい。架橋処理は、真空下、例えば約105~150℃、好ましくは約120~150℃、特に好ましくは約140℃の温度で、例えば約6~24時間、好ましくは約6~12時間、特に好ましくは約12時間行う。

#### 【0027】

最終的に、前記の微細線維化コラーゲン体(30)中の空隙に神経線維の成長を支援するような成分を充填するのであるが、この成分としては、ラミニン、特

にヒトラミンが好ましい。充填方法としては、ラミンをPBSに溶解したものにその内腔に微細線維化コラーゲン体(30)を有するチューブ(10、20)を浸漬したり、又はラミンのPBS溶液を該微細線維化コラーゲン体中に圧入したり、等どのような方法で行ってもよい。但し、微細線維化コラーゲン体(30)の作製ステップにおけると同様の理由により、このラミン充填ステップに先立ち、作製された該微細線維化コラーゲン体に対して架橋処理、好ましくは熱脱水架橋処理を行なっておくことが好ましい。尚、本発明の人工神経管を人工脊髄管として用いる場合には、このラミン充填に加え、神経線維の再生・進展を促進するための追加成分、例えばTGF- $\beta$ 等の細胞栄養/成長因子、自己のマクロファージをはじめとする炎症系細胞(外部にて培養したもの)又は自己、同種もしくは異種のオリゴデンドログリアやシュワン細胞等のミエリン(髄鞘)形成細胞、の内のすくなくとも一つを該微細線維化コラーゲン体中に導入することが好ましい。これらの追加成分の導入法については、常法に従って行なえばよい。これらの神経再生・進展支援成分の充填・導入の後、全体を風乾して本発明の人工神経管の製造が終了となる(勿論、市場での流通のために必要な操作、例えば袋詰めとか殺菌等を行わなくてよいという意味ではない)。

#### 【0028】

上記のように調製した人工神経管は、外傷又は外科手術などによって切断された神経の両方の断端を本人工神経管に内挿し、その部分を結紮することによって、軸索が再生し、正しい方向に伸びるのを誘導して、軸索を、末梢神経幹から神経筋接合部又は末梢感覚受容器まで到達させて、神経機能を回復させるために使用することができる。また、外傷などによって脊髄が損傷された場合においても、損傷箇所の椎骨をはずし、脊髄の損傷箇所を本人工神経管でカバーすることによって、損傷された脊髄を再生させて、その機能を回復させることができると考えられる。

#### 【0029】

##### 【実施例】

以下に本発明を、実施例及び比較例により詳細に説明するが、これらは本発明を限定するものではない。

## 【0030】

実施例

ポリグリコール酸 (PGA) 線維 ( $\phi$ : 0.1 mm) を筒状に編んで、長さ約 100 mm、内径約 4~5 mm、厚さ約 1 mm のポリグリコール酸のメッシュ状チューブ (メッシュ孔径: 約 10~20  $\mu$ m) を準備し、その表面をプラズマ放電処理にて親水化し、次いで、ブタ皮膚由来の 1.0 重量% の酵素可溶化コラーゲンを含む 1 N 塩酸溶液に浸漬、次いで風乾することによって、メッシュ状チューブの内外面を該コラーゲン塩酸溶液で被覆した (当然にそのメッシュ孔内部にも該コラーゲン塩酸溶液が充填されている。ここで、浸漬・風乾作業は 10 回繰り返した)。

次いで、前記のコラーゲン被覆層をその内外面に有するチューブに熱脱水架橋処理 (140℃×24 hr) を施した後、その内腔に前記のコラーゲン塩酸溶液を流し込み、それを凍結し (-20℃×24 hr)、凍結乾燥し (真空下、-80℃×48 hr)、そして再度、熱脱水架橋処理 (140℃×24 hr) に付した。

このようにして得られた架橋処理後の微細線維化コラーゲン体をその内腔に有する前記のチューブをヒトラミニンの PBS 溶液 (濃度: 10  $\mu$ g/ml) に浸漬 (10 min)、次いで風乾 (この作業の回数: 3 回) して本発明の人工神経管 (タイプ-1) を得た。

イヌ (体重 10 kg) の総腓骨神経 80 mm を切除し、両側の神経断端を前記の人工神経管に内挿し、該人工神経管と該神経断端との重畳部を 10-0 ナイロン糸で結紮し、経時的な評価を行なった。

## 【0031】

比較例

その内外面にコラーゲン被覆層を有する前記の PGA メッシュチューブの内腔に、予め熱脱水架橋処理 (140℃×24 hr) に付したブタ皮膚由来酵素可溶化コラーゲンの繊維 ( $\Phi$ : 約 5  $\mu$ m) をヒトラミニンの PBS 溶液 (濃度: 10  $\mu$ g/ml) に浸漬、次いで風乾 (この作業の回数: 3 回) して得たラミニン被覆コラーゲンの線維約 80 本を、該チューブの軸線に実質的に平行となるように挿入し

【0032】

#### 観察結果

比較例の場合、手術後1ヶ月では静止時の患側後肢の異常姿勢、歩行時の跛行が認められ、術後3ヶ月でも大半の被検体に前記の姿勢及び歩行異常の遅延が認められた。これに対し実施例では、術後1ヶ月での同機能異常の軽症化が認められ、術後3ヶ月では両者ともほぼ消失した。電気生理学的検討では、感覚神経の回復を表わす体性感覚誘発電位（SEP）、運動神経の回復を表わす複合筋活動電位（CMAP）ともに術直後の反応消失から再誘発までの期間が短縮され、術後3ヶ月の回復度（Recovery index）も促進された。

【0033】

#### 【発明の効果】

本発明の人工神経管は、神経が再生し終るまでの間、その形状を維持することができ、また神経の再生を誘導、促進するため、従来の人工神経管と比較して、切断された神経は、より速やかに、より長く再生し、再生した神経の状態もより正常に近く、神経機能の回復も良好である。また損傷を受けた脊髄の再生、回復のための人工脊髄管としても使用することができる。

#### 【図面の簡単な説明】

##### 【図1】

本発明に係る人工神経管の1実施態様の断面を示す図である（構成を模式的に示したものであり、寸法は実寸ではない。また、符号30が指し示している部分は実体であるが、説明の都合上斜線を省いている）。

##### 【図2】

タイプ1の本発明に係る人工神経管の構造（断面）を示すSEM写真である。

##### 【図3】

タイプ2の本発明に係る人工神経管のチューブ基材の構造（表面）を示すSEM写真である。

##### 【図4】

本発明に係る人工神経管のチューブ内腔に存在せしめられる微細線維化コラー

ゲン体の構造（断面）を示すSEM写真である。

【符号の説明】

11、21      （生体内分解吸収性材料からなる）チューブ

12、13      （ゼラチン）被覆層

22、23      （コラーゲン）被覆層

---

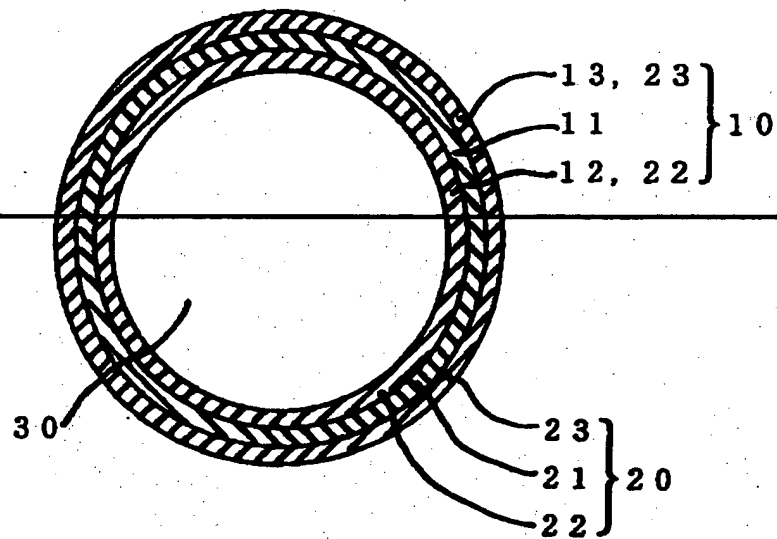
30      微細線維化コラーゲン体

---

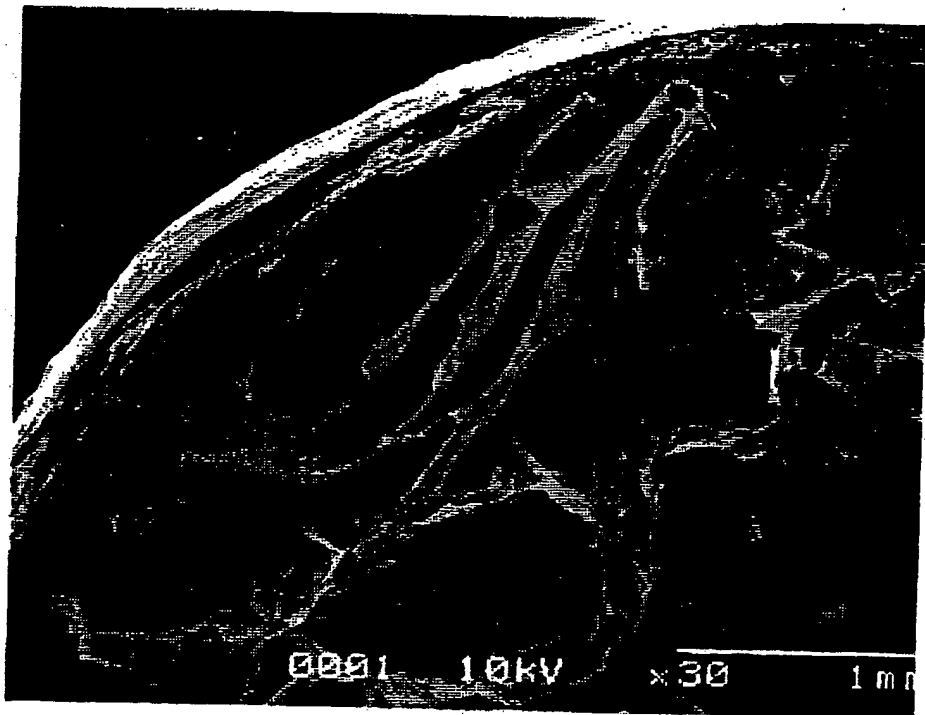
【書類名】

図面

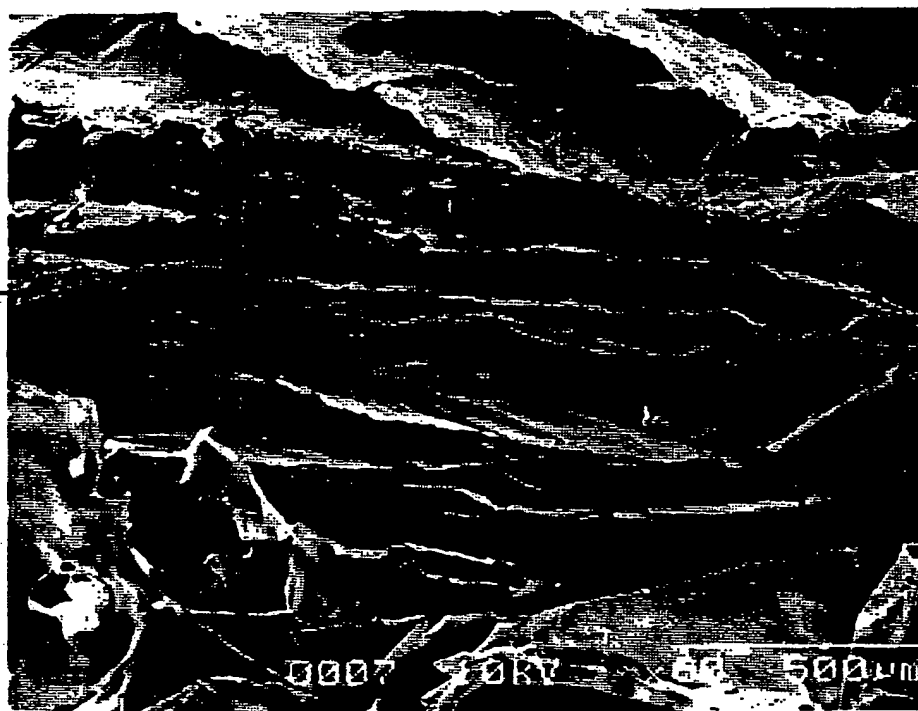
【図1】



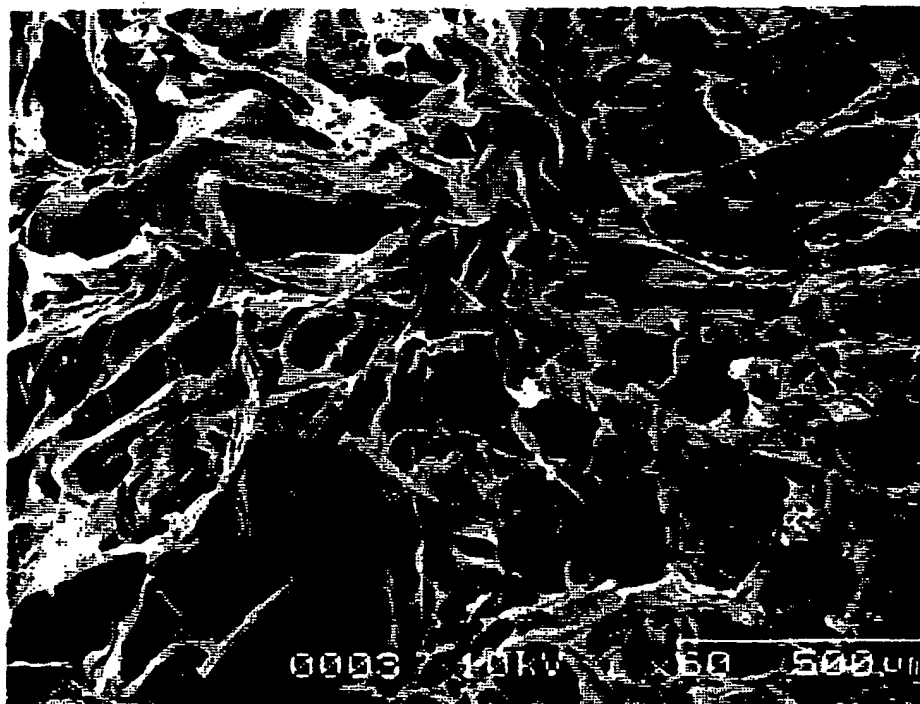
【図2】



【图3】



【图4】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 本発明は、神経が再生するまでは生体内で残存し、神経の再生後は、異物として生体に残存することがなく、切断された神経断端からの軸索の再生を誘導し、生体からの毛細血管の侵入を促し、神経組織の再生を促す人工神経管を提供することを目的とする。

---

【解決手段】 生体内分解吸収性材料からなるチューブの内腔に微細線維化コラーゲン体を有する人工神経管であって、該微細線維化コラーゲン体中の空隙にラミニンが充填されたものである人工神経管、及びその製造方法である。

【選択図】 図1

特平11-192993

出願人履歴情報

識別番号

[591101825]

---

1. 変更年月日	1991年 4月15日
[変更理由]	住所変更
住 所	京都府宇治市木幡御蔵山39-676
氏 名	清水 慶彦

---

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [597095474]

---

1. 変更年月日	1997年 6月 3日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都港区虎ノ門1丁目22番12号
氏 名	株式会社タピック